



ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МЕДИЦИНА

УДК 616.992.282:615.371:615.015.33

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОПТИМАЛЬНОГО ПУТИ И КРАТНОСТИ ВВЕДЕНИЯ ИНАКТИВИРОВАННЫХ КЛЕТОК ГРИБОВ *CANDIDA ALBICANS* ДЛЯ ОБРАЗОВАНИЯ АНТИТЕЛ

Н.В. РЫБАЛКИН
Н.И. ФИЛИМОНОВА
О.П. СТРИЛЕЦ
Л.С. СТРЕЛЬНИКОВ

*Национальный
фармацевтический
университет, г. Харьков*

e-mail: ribalkin.nikolay@mail.ru

В статье изложена проблема роста заболеваемости кандидозами и необходимости создания иммунобиологического препарата для предупреждения и лечения кандидозной инфекции. Целью данной работы является определение оптимального пути и кратности введения инактивированных клеток грибов *C. albicans* для образования антител. Мышам внутримышечно в верхнюю часть задней правой лапы и отдельно подкожно в верхнюю часть задней правой лапы вводили инактивированные клетки грибов *Candida* в объеме по 0,2 мл. Через 14 суток проводили определение защитных функций организма животных за титром специфических антител при проведении иммуноферментного анализа. В результате проведенных исследований установлено, что двукратный внутримышечный способ введения инактивированных клеток *C. albicans* обеспечивает более высокие титры антител, чем подкожный способ введения. Также установлено, что доза 4 млн.кл./мл инактивированных клеток *C. albicans* является оптимальной для получения максимально высокого титра антител.

Ключевые слова: кандидамикоз; антиген; вакцина; иммунитет; доза.

Актуальность проблемы кандидоза обусловлена прежде всего тем, что это – наиболее распространенная грибковая инфекция. На долю кандидоза приходится большинство случаев грибковых поражений слизистых оболочек. Как возбудители глубоких микозов грибы рода *Candida* также оставляют далеко позади всех грибов, взятых вместе. Вызывает кандидоз около 20 видов грибов рода *Candida*. Главным возбудителем кандидоза и наиболее изученным видом является *C. albicans* [1].

Кандидоз по праву называется оппортунистической инфекцией, которая поражает только иммуносупрессированный микроорганизм. Среди большого количества факторов, которые способствуют развитию кандидоза, расстройству иммунной системы уделяют наибольшее внимание. В последние годы популярным среди микологов стала мысль о том, что расстройства клеточного иммунитета, в том числе, которые наблюдаются при ВИЧ-инфекции и СПИДе, способствуют образованию исключительно поверхностным формам кандидоза, а поражения внутренних органов невозможно без тяжелого расстройства фагоцитоза. Анализ клинических наблюдений дает право считать эту мысль обоснованной [1-3].

Даже при наличии в арсенале врача современных противогрибковых средств, высокоактивных по отношению к *Candida spp.*, лечение висцеральных форм кандидоза на фоне тяжелого иммунодефицита и нейтропении редко бывает удачным [1, 4]. Вот почему мы, оставляя в стороне вопрос вариабельности чувствительности различных видов и отдельных штаммов одного и того же вида *Candida* к антибиотикам, должны обратиться к проблемам иммунного ответа при кандидозе, чтобы выявить те цепи иммунной защиты организма, на которые можно было бы воздействовать для спасения больных [5, 6].



Необходимо отметить, что во многих странах мира сейчас активно ведутся исследования по разработке вакцин против кандидозной инфекции [7-10]. В Украине на сегодняшний день не выпускается ни одной отечественной и не зарегистрировано ни одной импортной вакцины против кандидозной инфекции. Поэтому разработка вакцины для предупреждения и лечения кандидозной инфекции является актуальным вопросом современной фармации и медицины.

В предыдущих исследованиях было обосновано оптимальный метод инактивации клеток грибов *S. albicans*, теперь необходимо проверить их на способность вызывать иммунный ответ при введении в организм.

Целью данной работы является определение оптимального пути и кратности введения инактивированных клеток грибов *S. albicans* для образования антител.

Материалы и методы. Для оценки способности инактивированных клеток грибов *S. albicans* в различных концентрациях 1, 2, 3, 4, 5 млн.кл./мл вызвать образование антител проводили исследования на здоровых мышах по 6 животных в контрольных и опытных группах, которые содержались в одинаковых условиях на стандартном рационе. Перед исследованиями животные проходили акклиматизацию в условиях экспериментальной комнаты. Мышам внутримышечно в верхнюю часть задней правой лапы и отдельно подкожно в верхнюю часть задней правой лапы вводили инактивированные клетки грибов *Candida* в объеме по 0,2 мл. Через 14 суток проводили определение защитных функций организма животных за титром специфических антител при проведении иммуноферментного анализа.

Через 14 дней после первой инъекции, повторно, в верхнюю часть задней левой лапы и отдельно подкожно в верхнюю часть задней левой лапы вводили инактивированные клетки грибов *Candida* в объеме по 0,2 мл. Животным в контрольной группе вводили физиологический раствор. Через 14 суток проводили определение защитных функций организма животных за титром специфических антител для *S. albicans* при проведении иммуноферментного анализа согласно требованиям ГФУ. Для этого использовали набор реагентов для иммуноферментного выявления антител класса G к *S. albicans*. Тест-системы ИФА «Вектор-Бест», которая выпускается в России.

Результаты и обсуждение. Результаты исследований показали, что однократная инъекция во всех дозах повышает уровень специфических антител *S. albicans* в два раза 1:800 по сравнению с титром антител у животных к началу исследования 1:400. Вторая инъекция с интервалом 14 суток обеспечивает повышение титра антител к значению 1:1600-1:3200 в дозах 4 и 5 млн.кл./мл.

Согласно результатам исследования установлено, что внутримышечная инъекция обеспечивает выше титры антител 1:3200 чем подкожная инъекция 1:1600 на 14 сутки после второго введения в дозах 4 и 5 млн.кл./мл. Титр антител сохранялся у животных в течение 3 месяцев (срок наблюдения). Результаты исследований представлены в табл. 1.

Таблица 1

Оценка способов и кратности иммунизации мышей

| Животные | Доза, млн.кл./мл | Способ введения | Титры АТ в ИФА для <i>S. albicans</i> | | |
|----------|------------------|-----------------|---------------------------------------|--------------------|--------------------|
| | | | До инъекций | После 1-й инъекции | После 2-й инъекции |
| Мыши | 1 | в/м | 1:400 | 1:800 | 1:1600 |
| Мыши | | п/к | 1:400 | 1:800 | 1:1600 |
| Мыши | 2 | в/м | 1:400 | 1:800 | 1:1600 |
| Мыши | | п/к | 1:400 | 1:800 | 1:1600 |
| Мыши | 3 | в/м | 1:400 | 1:800 | 1:1600 |
| Мыши | | п/к | 1:400 | 1:800 | 1:1600 |
| Мыши | 4 | в/м | 1:400 | 1:1600 | 1:3200 |
| Мыши | | п/к | 1:400 | 1:800 | 1:1600 |
| Мыши | 5 | в/м | 1:400 | 1:1600 | 1:3200 |
| Мыши | | п/к | 1:400 | 1:800 | 1:1600 |

Примечание: n=6, P<0,5

Выводы. В результате проведенных исследований установлено, что двукратный внутримышечный способ введения инактивированных клеток *S. albicans* обеспечивает более высокие титры антител, чем подкожный способ введения. Также установлено, что доза 4 млн.кл./мл инактивированных клеток *S. albicans* является оптимальной для получения максимально высокого титра антител.



Литература

1. Голубка, О.В. Поширеність кандидозів, загальна характеристика збудника, особливості лабораторної діагностики / О. В. Голубка // *Annals of Mechnikov Institute*. – 2011. – № 2. – С. 51-59.
2. The changing epidemiology of healthcare-associated candidemia over three decades / D. Diekema [et al.] // *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* – 2012. – № 73. – P. 45-48.
3. Sims, C. R. Invasive candidiasis in immunocompromised hospitalized patients / C. R. Sims, L. Ostrosky-Zeichner, J. H. Rex // *Arch Med Res.* – 2005. – № 36. – P. 660-671.
4. Antifungal agents: mode of action in yeast cells / A. J. Carrillo-Muñoz [et al.] // *Revista Espanola de Quimioterapia*. – 2006. – Vol. 19. – № 2. – P. 130-139.
5. Жукова, Н. В. Теоретические основы иммунопрофилактики / Н. В. Жукова, И. М. Кривошеева, Н. В. Миропниченко // ГУ «Крымский государственный медицинский университет имени С. И. Георгиевского». – 2012. – С. 31-34.
6. Host defense pathways against fungi: the basis for vaccines and immunotherapy / A. Carvalho [et al.] // *Front. Microbiol.* – 2012. – Vol. 3. – P. 1-9.
7. LeibundGut-Landman, S. Immunity to fungi / S. LeibundGut-Landman // *Curr. Opin. Immunol.* – 2012. – № 24. – P. 1 – 10.
8. Агольцов, В. А. Получение противокандидозной вакцины и изучение ее иммуногенных и биохимических свойств / В. А. Агольцов // *Вестник СГАУ им. Н.И. Вавилова*. – 2005. – № 1. – С. 3-5.
9. Cassone, A. Development of vaccines for *Candida albicans*: fighting a skilled transformer / A. Cassone // *Nature Reviews Microbiology*. – 2013. – Vol. 11. – № 12. – P. 884-891.
10. Segal, E. Fungal vaccines and immunotherapy / E. Segal, D. Elad // *Mycolog Med.* – 2006. – № 16. – P. 134-151.

DETERMINATION OF OPTIMUM WAYS AND MULTIPLICITY OF FUNGAL CELLS CANDIDA ALBICANS TO GENERATE ANTIBODIES

**M.V. RYBALKIN
N.I. FILIMONOVA
O.P. STRILETS
L.S. STRELNIKOV**

*National University of
Pharmacy, Kharkiv*

e-mail: ribalkin.nikolay@mail.ru

In this paper the problem of increased morbidity and the need for candidiasis immunobiological preparation for the prevention and treatment of *Candida* infections. The aim of this study is to determine the optimal path and the frequency of administration of inactivated fungal cells *C. albicans* to form antibodies. Mice were intramuscularly into the upper part of the right hind paw and individually subcutaneously in the upper part of the right hind paw was injected inactivated *Candida* fungal cells in a volume of 0.2 ml. After 14 days by determination of the protective functions of the organism of animals per titer of specific antibodies during the ELISA. The studies found that the intramuscular route of administration twice inactivated *C. albicans* cells allows higher titers of antibodies than the subcutaneous route of administration. Also found that a dose of 4 mln.kl./ml inactivated *C. albicans* cells is optimal for obtaining the highest titer of antibodies.

Key words: candidiasis; antigen; the vaccine; immunity; dose.